意大利蜜蜂工蜂脂肪体胚后发育过程中细胞的增殖和凋亡

李兆英
(陕西学前师范学院生物科学与技术系，西安 710100)

摘要：脂肪体是昆虫体内物质贮备和中间代谢的重要组织。本研究通过显微形态观察、BrdU 免疫组织化学和原位末端转移酶标记(TUNEL)细胞凋亡检测技术，对意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 工蜂脂肪体胚后发育过程中细胞的增殖和凋亡特点进行了比较研究。结果表明：意大利蜜蜂工蜂脂肪体细胞数量的快速增加集中在幼虫发育前期(1 - 3 龄)，而细胞的凋亡则集中在蛹发育早期的 2 - 3 d(预蛹 - 2 日龄蛹)时间之内。在变态发育中，工蜂幼虫脂肪体凋亡降解后重新组建形成成虫的脂肪体。本研究为昆虫脂肪体的功能研究以及昆虫组织细胞自噬和凋亡的机制研究提供一定的证据。

关键词：意大利蜜蜂；脂肪体；免疫组织化学；增殖；凋亡；5-溴-2-脱氧脲嘧啶；原位末端转移酶标记
中图分类号：Q965 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2013)11-1252-06

Proliferation and programmed cell death in the fat body in workers of the Italian honeybee (*Apis mellifera ligustica*) during postembryonic development

LI Zhao-Ying (Department of Biological Science and Technology, Shaanxi Xueqian Normal University, Xi'an 710100, China)

Abstract: The fat body of insects is an important tissue of material reserves and intermediary metabolism. The proliferation and apoptosis pattern of the fat body in workers of the Italian honeybee, *Apis mellifera ligustica*, was comparatively studied by using micromorphological observation, 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) incorporation and the terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) technique. The results showed that the fat body cells divided continuously in the early larval stage from the 1st instar to the 3rd instar. Extensive apoptosis in the fat body could be detected only within a narrow time window during metamorphosis in the early pupal stage from prepupa to day 2 pupa. During metamorphosis, the fat body of larva degenerated and reorganized to form the adult fat body. This study provides a theoretical basis for research on the function of fat body and the mechanisms of autophagy and apoptosis.

Key words: *Apis mellifera ligustica*; fat body; immunohistochemistry; proliferation; apoptosis; 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU); terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling (TUNEL)

脂肪体是昆虫体内的一种重要结构，它既是脂肪、蛋白质和碳水化合物代谢的中心，又是主要激素(如神经激素、蜕皮激素、保幼激素)作用的靶组织，还具有贮存、排泄和解毒等生理功能。昆虫的脂肪体是由脂肪体细胞组成的，在昆虫体内主要分布在体壁下和消化道等脏器周围，与体液充分接触，便于物质的交换与运输。脏器上的脂肪体具有更高的生物合成机能，而体壁脂肪体则更多地担负着物质贮备的职能(Roma *et al*., 2008)。

脂肪体细胞的结构和功能，因昆虫发育阶段的不同而有变化。全变态类昆虫在从幼虫到蛹的发育过程中，脂肪体细胞结构会发生剧烈的变化，脂肪体重新形成成虫型脂肪体(Rusten *et al*., 2004)。Walker(1966)对蓖麻蚕 *Philosamia cynthia* 进行的研究发现，其体壁脂肪体在幼虫期随幼虫的发育而增长，脂肪体细胞内构造的变化不显著。但是在蛹的

基金项目：陕西省教育厅科技计划项目(2013JK0719)
作者简介：李兆英，女，1971 年生，山东青州人，博士研究生，副教授，研究方向为昆虫生理及发育，E-mail：apis2006@163.com
收稿日期 Received：2013-05-02；接受日期 Accepted：2013-09-18

变态过程中，细胞内的胞核以及细胞器都发生了大的构造变化。Butterworth 等(1988)使用形态学和细胞化学技术对果蝇 *Drosophila* 胚后发育过程中脂肪体的变化特点进行了描述。刘玉斌和钟香臣(1991)用电子显微镜和光学显微镜观察了蓖麻蚕蛹脏器脂肪体的细胞构造特征，显示脂肪细胞在整个蛹期细胞内的化学物质以及细胞器都发生了剧烈的变化。Müller 等(2004)研究了鳞翅目烟草天蛾 *Manduca sexta* 的脂肪体在不同发育过程中程序性细胞死亡(programmed cell death，PCD)的机制，显示了幼虫脂肪体细胞的分解是通过自噬作用来完成的。Roma 等(2008)对一些切叶蚁(Attini ant)脂肪体细胞中的蛋白质和脂类的特点及功能进行了比较研究，显示了在 4 种切叶蚁 *Attini cyphomyrmex rimosus*，*Mycetarotes parallelus*，*Acromyrmex disciger* 和 *Atta laevigata* 工蚁的体壁和脏壁脂肪体细胞中遍布了各种大小和形状的电子密度很高的蛋白质颗粒和脂滴。

本研究通过形态观察、BrdU(5-bromo-2-deoxyuridine)免疫组织化学(BrdU incorporation)以及原位末端转移酶标记(terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling，TUNEL)细胞凋亡检测等技术，对意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 工蜂胚后发育过程中脂肪体的发育特点进行了比较研究，以期为昆虫脂肪体的功能以及自噬和凋亡机制的研究提供一定的理论证据。

1　材料与方法

1.1　实验材料

实验所用的意大利蜜蜂工蜂的幼虫、蛹及成虫均购自秦岭沣峪蜜蜂养殖户，所取试虫均来自同一蜂群。幼虫(larva，L)共 5 龄(L1－L5)，根据戴氏定律(Dyar's law)，每一头幼虫的龄期通过测量头壳的宽度来决定；预蛹(prepupa，PP)期 2 d；蛹(pupa，P)期约 9 d (P1－P9)。

1.2　组织切片制备和观察

取意大利蜜蜂工蜂的幼虫、预蛹、蛹和成虫于多聚甲醛 4℃固定过夜。梯度酒精脱水，二甲苯透明。石蜡包埋，横向或纵向连续切片，切片厚度 5～7 μm，切片裱于涂有多聚赖氨酸的载玻片上，烘干备用。切片脱蜡后复水，HE 染色，OLYMPUS (BX51)显微镜观察拍照。

1.3　BrdU 掺入处理

对取得的蜜蜂幼虫和蛹的活体，使用了 2 种 BrdU 处理方法：(1) 直接注射法，对于 3 龄以上幼虫、预蛹和蛹，直接从腹部注射约 3 μL 浓度为 25 mg/mL 的 BrdU (B9002，Sigma)；(2)饲喂法，对于 1－2龄幼虫，用浓度为25 mg/mL 的 BrdU 混合溶液[H_2O 和蜂王浆以 1∶1 (v/v)混合](Edwards，1969)进行饲喂。

1.4　BrdU 免疫组织化学染色

将 BrdU 处理过的 1－5 龄幼虫，预蛹及 1－8 d 蛹各 3～5 头，于 4% 多聚甲醛 4℃固定 8 h。70%，80%，90%，95% 和 100% 梯度酒精脱水，石蜡包埋，横向连续切片，厚度为 7 μm。切片裱于涂有多聚赖氨酸的载玻片上，烘干备用。

切片用二甲苯脱蜡，入梯度酒精复水；抗原修复，PBS 洗 3 次；3% 过氧化氢封闭内源性酶 10 min，TBS 洗 3 次；滴加正常山羊血清封闭液，37℃ 30 min；滴加小鼠 BrdU 单克隆抗体(1/200)(ab8039，ABCAM)，湿盒中 4℃孵育过夜，PBS 洗 3 次。滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG，37℃ 120 min，PBS 洗 3 次；滴加过氧化物酶 37℃孵育 30 min，PBS 洗 3 次；DAB 显色后镜检，中性树胶封片，Nikon 数码显微成像系统(DS-5M)拍照。

阴性对照以 PBS 代替一抗。

1.5　TUNEL 原位细胞凋亡检测

切片用二甲苯脱蜡，入梯度酒精复水；复合消化液(蛋白酶 K-胃蛋白酶)37℃孵育 20 min，PBS 洗 2 次；滴加新鲜配置的 TUNEL 反应混合溶液(Roche)，湿盒中 37℃孵育 60 min，PBS 洗 3 次；滴加转化剂-POD，37℃孵育 30 min，PBS 洗 3 次；DAB 显色后镜检，中性树胶封片，Nikon 数码显微成像系统(DS-5M)拍照。

阴性对照以不含末端脱氧核糖核酸转移酶的核苷酸混合液代替 TUNEL 反应混合溶液。

1.6　脂肪体细胞增殖和凋亡的定量分析

通过对切片上脂肪体细胞的数量以及 BrdU 和 TUNEL 标记的细胞数量计数进行定量分析(7 μm 切片)，来评价脂肪体胚后发育过程中细胞增殖和凋亡的情况。通常切片上细胞核的数量同细胞的数量是成比例的，比例系数依赖于切片的厚度，以及细胞的大小、形状和核的方位。校正公式为 $C = c[t/(t+d)]$，C 是校正数，c 为常数，t 为切片厚度，d 是细胞的直径(Abercrombie，1946)。每一时间点选用 3～5 头试虫的 5～10 个视野，放大倍数

均为 40 ×，计算其平均数 ± 标准误(mean ± *SE*)。

2 结果

在 L1 期，脂肪体细胞体积较大，直径约 30.40 ± 5.08 μm；胞核大，圆形或椭圆形，直径约 11.25 ± 2.17 μm；细胞质嗜碱性；大颗粒状的脂滴已经出现(图 1：A)。到 L1 晚期，BrdU 标记显示脂肪体细胞开始进行快速的细胞分裂(图 1：B)。在 L2 期，大量的脂肪细胞开始进行旺盛的分裂，有丝分裂的各个时期明显可见(图 1：C，D)；脂肪体细胞的快速分裂一直持续到 L3(图 2)，细胞的体积(30.80 ± 3.36 μm)较 L1 时没有大的变化，大的脂滴将胞核挤在细胞的一边(图 1：E)。到 L4 时，脂肪体细胞的分裂几乎全部停止，此时细胞的体积开始增大，直径达到 46.75 ± 4.23 μm，有的细胞中有 2 个胞核(图 1：F)。到幼虫晚期(L5)，细胞体积进一步增大，达到 61.05 ± 2.01 μm，细胞界限不清晰，胞核变小，直径约 8.63 ± 1.58 μm，呈树枝状分支(图 1：G)。

蛹发育前期(PP-P1)，脂肪体细胞破碎，胞膜大部分消失，仅有极少数细胞有核存在(图 1：H)，大量细胞开始凋亡(图 1：I)。细胞凋亡一直持续到蛹发育的第 2 天(P2)(图 1：J)(图 2)。到 P3 时，已看不到凋亡的细胞，新的脂肪体细胞已经形成，细胞的大小在 44.73 ± 4.35 μm。脏器周围的脂肪体细胞较大，胞质中有大量嗜酸性的蛋白颗粒和油滴，胞核小而不规则，有圆形、长线形以及 U 形(图 1：K)。P5 时细胞的大小在 45.70 ± 3.93 μm(图 1：L)，细胞大小基本稳定，一直持续到成虫早期。

3 讨论

3.1 意大利蜜蜂脂肪体胚后发育的特点

在昆虫体内，脂肪体主要分布在体壁下和消化道等脏器周围，它们分别被称为体壁脂肪体(peripheral 或 subcuticular fat body)和脏器脂肪体(perivisceral 或 visceral fat body)。脂肪体的位置不同，功能和形态也有所不同(Haunerland and Shirk, 1995)。刚刚孵化的工蜂幼虫，其脂肪体细胞内存在着大量的脂滴，但是看不到蛋白颗粒，这些特点同其他膜翅目(Roma *et al.*, 2008)以及双翅目(Scott *et al.*, 2004)的昆虫类似。此时的脂肪体为接下来的幼虫发育储备了充足的营养和能量。到幼虫发育中期，体壁脂肪体细胞的体积明显大于脏器脂肪体，并且含有更大的脂滴，且细胞排列较为松散，到幼虫发育末期还有双核现象，这可能与它们主要担负着物质贮备的职能有关。这种形态特征有利于它们同体液充分接触，便于物质的交换与运输；而脏器脂肪体细胞则较小，且排列紧密，它们主要完成更高的生物合成、摄取和消化的功能(Haunerland and Shirk, 1995)。从蛹发育中期开始，脏器脂肪体细胞内堆积了大量的嗜酸性蛋白质颗粒，直径大约在 6 ~ 10 μm，占到整个细胞横切面的 2/3 以上，除此之外，细胞中还有大量的脂滴，其构造与体壁脂肪体基本相似，表明了在这些阶段它们具有类似的功能。

意大利蜜蜂工蜂脂肪体细胞数量的增加主要集中在幼虫发育阶段，在 L2 - L3 时出现一个峰值，这是细胞快速分裂增殖的结果；到 L4 时，随着细胞分裂活动的停止，细胞数量也随之减少；到蛹发育中期，细胞数量又有所增加，但是增加的不多，并且也没有 BrdU 标记的阳性颗粒出现，说明此阶段脂肪体只是细胞内物质的积聚而造成的体积的增加。从蛹发育的第 3 天一直到成虫阶段，脂肪体细胞的数量趋于稳定，基本维持在一个恒定的范围。而果蝇脂肪体细胞数量的增加则会一直延续到成虫发育的第 3 天(Butterworth *et al.*, 1988)。就脂肪体细胞以及胞核的大小而言，意大利蜜蜂幼虫早期细胞体积较大，直径约 30.40 ± 5.08 μm，胞核的大小基本稳定在 11.25 ± 2.17 μm，类似的体积一直持续到 3 龄幼虫阶段。随后细胞体积逐渐增大，到末龄幼虫时达到 61.05 ± 2.01 μm，但是胞核却减小到 8.63 ± 1.58 μm。到蛹发育的第 3 天(P3)以后，细胞的体积基本维持在 45 μm 左右，一直持续到成虫。昆虫脂肪体细胞体积的变化主要同细胞内物质，如脂滴、糖原和蛋白颗粒等的积累和代谢有关。而胞核的大小则同遗传物质——DNA 的代谢过程相一致，即幼虫前期 DNA 合成，而在幼虫发育晚期及变态发育期间，DNA 开始裂解、退化(Roma *et al.*, 2008)。意大利蜜蜂幼虫阶段脂肪体细胞的体积增加了约 2 倍，说明了幼虫期虫体生长旺盛、充分吸收营养；脂肪体细胞内中间代谢活跃，并储存蛋白质、脂类等化合物，为变态发育做准备。在末龄幼虫前后，脂肪体细胞出现双核和多核现象，表明了脂肪体在化蛹以前需要合成更多的蛋白质以及特殊的酶类(郦卫弟等, 2007)。而果蝇脂肪体细

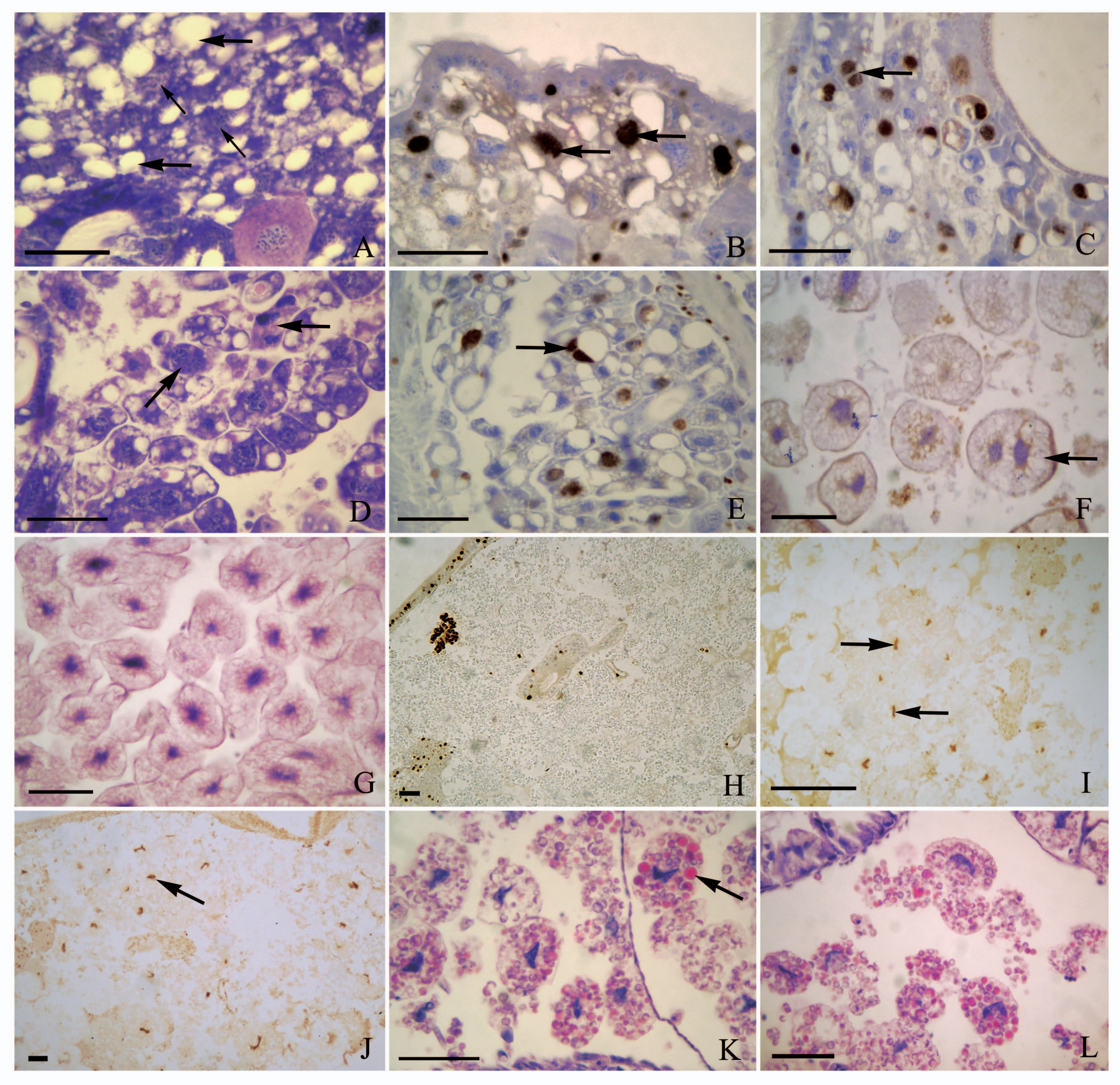


图 1　意大利蜜蜂工蜂脂肪体的胚后发育

Fig. 1　Postembryonic development of the fat body in workers of *Apis mellifera ligustica*

A：工蜂 1 龄幼虫脂肪体的组织结构，粗箭头指示为脂肪体细胞质中的脂滴，细箭头指示为胞核 Structural organization of the fat body of the 1st instar larva. Thick arrows denote lipid droplets in cytoplasm of the fat body. Thin arrows denote nuclei of the fat body. B：BrdU 标记工蜂 1 龄幼虫的体壁脂肪体，箭头指示为标记的脂肪体细胞 BrdU-labeled peripheral fat body of the 1st instar larva. Arrows denote BrdU-labeled fat body cells. C：BrdU 标记工蜂 2 龄幼虫的脏器脂肪体，箭头指示为标记的脂肪体细胞 BrdU-labeled perivisceral fat body of the 2nd instar larva. The arrow denotes BrdU-labeled fat body cell. D：工蜂 2 龄幼虫脂肪体的组织结构，箭头指示为处于有丝分裂末期的脂肪体细胞 Structural organization of the fat body of the 2nd instar larva. Arrows denote fat body cells in mitotic telophase. E：BrdU 标记工蜂 3 龄幼虫的脏器脂肪体，箭头指示为标记的脂肪体细胞 BrdU-labeled perivisceral fat body of the 3rd instar larva. The arrow denotes BrdU-labeled fat body cell. F：BrdU 标记工蜂 4 龄幼虫的体壁脂肪体，箭头指示为双核脂肪体细胞 BrdU-labeled peripheral fat body of the 4th instar larva. The arrow denotes binucleated fat body cell. G：工蜂 5 龄幼虫脂肪体的组织结构 Structural organization of the fat body of the 5th instar larva. H：BrdU 标记工蜂预蛹的脂肪体 BrdU-labeled fat body of prepupa. I：TUNEL 标记工蜂 1 日龄蛹的脂肪体，箭头指示为标记的脂肪体细胞 TUNEL-labeled fat body of day 1 pupa. Arrows denote TUNEL-labeled fat body cells. J：TUNEL 标记工蜂 2 日龄蛹的脂肪体，箭头指示为标记的脂肪体细胞 TUNEL-labeled fat body of day 2 pupa. The arrow denotes TUNEL-labeled fat body cell. K：工蜂 3 日龄蛹脏器脂肪体的组织结构，箭头指示为脂肪体细胞中的嗜酸性蛋白质颗粒 Structural organization of perivisceral fat body of day 3 pupa. The arrow denotes acidophilic protein granule in the fat body cell. L：工蜂 5 日龄蛹脏器脂肪体的组织结构 Structural organization of perivisceral fat body of day 5 pupa. 标尺 Scale bars = 50 μm.

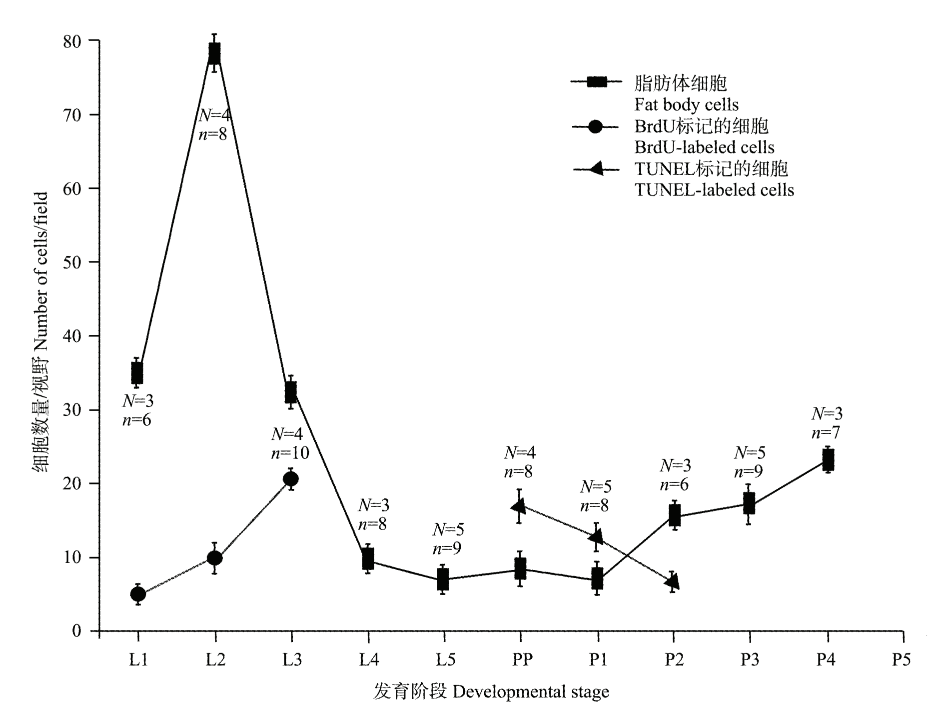


图 2　意大利蜜蜂工蜂脂肪体胚后发育过程中细胞数量变化

Fig. 2　Number of the fat body cells in workers of *Apis mellifera ligustica* during postembryonic development

N 和 *n* 分别表示试虫数量和观察视野数量。*N* and *n* denote the number of test insects and the number of observed fields, respectively. L1 – L5：1 – 5 龄幼虫 1st – 5th instar larva；PP：预蛹 Prepupa；P1 – P5：1 – 5 日龄蛹 Day 1 to day 5 pupa, respectively.

胞的体积在幼虫期增加了约 5 倍(Scott *et al*., 2004)，增长的速度明显大于蜜蜂，这可能与果蝇幼虫发育期较短(3 d)，而身体增长较快有关：果蝇幼虫在短短的 3 d 时间里，身体的体积增加了 200 倍以上。

蛋白颗粒在昆虫脂肪体细胞中的变化主要经历了 2 个周期：在蛹发育早期，蛋白颗粒主要是以溶酶体的形式存在，其数量的增加是因为在短时间内形成了大量的溶酶体；随后，溶酶体的数量减少，而用于细胞能量积累的蛋白颗粒逐渐增加，这些蛋白质主要是供应成虫器官芽发育所需的各类物质。Roma 等(2008)对切叶蚁(Attini ants)蛹脂肪体细胞中蛋白质和脂类的超微结构以及化学成分的研究分析表明，脂肪体细胞中部分蛋白质颗粒 PAS (periodic acid-Schiff's reaction)染色呈阳性，说明大量的蛋白质颗粒中尚有一部分糖蛋白颗粒。而羽化为成虫的 24 h 后，脂肪体内即没有蛋白质颗粒，说明了蛹期贮存的蛋白质颗粒均被转化为可被利用的各种蛋白质，以供应成虫各个组织器官的发育。

3.2　意大利蜜蜂脂肪体的程序性细胞死亡

许多研究表明，昆虫在变态发育期间，脂肪体细胞的退化是通过程序性细胞死亡中的细胞自噬和凋亡两种途径实现的(Müller *et al*., 2004；史艳霞等, 2009)。在意大利蜜蜂工蜂幼虫的脂肪体中，没有看到任何凋亡的形态特征，如细胞的破碎、分解和皱缩等，也没有 TUNEL 标记的阳性颗粒出现。而 TUNEL 标记显示了脂肪体细胞的快速凋亡出现在蛹发育早期的 2 – 3 d (PP-P2)时间内，这个时间明显短于小地老虎 *Agrotis ypsilon* (10 d)(陈长琨等, 1988)。在这期间，脂肪体细胞膜破裂崩解，细胞核消失，部分离散的细胞被血细胞吞噬，另一部分细胞进入肌原细胞参与肌肉组织的更新(Keeley, 1978)，这个结果同早期对鳞翅目昆虫的研究一致(Schwartz *et al*., 1993)。Müller 等(2004)观察到烟草天蛾 *M. sexta* 的脂肪体细胞广泛的自噬、细胞内溶酶体的数量快速增加，都发生在幼虫发育末期和蛹早期，并且凋亡细胞的平均比率高达 90%，整个凋亡过程大约持续了 3 d，这个时间同意大利蜜蜂相近。鳞翅目昆虫细胞自噬显著特征的出现先于细胞凋亡的典型特征——DNA 断裂，说明自噬是先于凋亡而出现的。但是其他的一些数据显示自噬和凋亡 2 条途径在昆虫幼虫的某些器官中可能共同存在，如唾液腺和前胸腺(Dai and Gilbert, 1997)。关于蜜蜂脂肪体中细胞自噬和凋亡的关系还有待于进

一步的实验证明。

在昆虫的变态发育期间，幼虫的器官和组织开始通过解体和自溶的方式退化，“成虫芽”则开始构建成虫的器官和结构，幼虫的脂肪体也会重新组建形成成虫的脂肪体。Keeley（1985）对天蚕蛾 *Hyalophor cecropia* 脂肪体的发育研究表明，在鳞翅目昆虫的幼虫发育末期，脂肪体细胞被分散成单个细胞，后重新聚集形成成虫脂肪体，细胞并不瓦解，只是细胞质结构发生了重组。刘玉斌和钟香臣（1991）在蓖麻蚕 *P. cynthia* 蛹脏器脂肪体内也未观察到细胞的分解现象，仅看到脂肪细胞的细胞器发生退化和重组。但是对意大利蜜蜂工蜂脂肪体发育的观察则显示，幼虫的脂肪体细胞在蛹早期会大量破碎、裂解凋亡，后重新组建形成成虫的脂肪体，其他的一些膜翅目昆虫也是如此（Haunerland and Shirk, 1995）。Müller 等（2004）的研究也证实了烟草天蛾 *M. sexta* 蛹期的脂肪体细胞存在广泛的凋亡和重组。

参考文献（References）

Abercrombie M, 1946. Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.*, 94: 239－247.

Butterworth FM, Emerson L, Rasch EM, 1988. Maturation and degeneration of the fat body in the *Drosophila* larva and pupa as revealed by morphometric analysis. *Tissue Cell*, 20: 255－268.

Chen CY, Wang YC, You ZP, 1988. Changes of the fat body of black cutworm during metamorphosis and the effect of juvenile hormone analogue. *Acta Entomologica Sinica*, 31(2): 157－166.［陈长琨，王荫长，尤子平，1988. 小地老虎变态期脂肪体变化及保幼激素类似物的影响. 昆虫学报，31(2): 157－166］

Dai JD, Gilbert LI, 1997. Programmed cell death of the prothoracic glands of *Manduca sexta* during pupal-adult metamorphosis. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 27: 69－78.

Edwards JS, 1969. Postembryonic development and regeneration of the insect nervous system. *Adv. Insect Physiol.*, 6: 97－137.

Haunerland NH, Shirk PD, 1995. Regional and functional differentiation in the insect fat body. *Annu. Rev. Entomol.*, 40: 121－145.

Keeley LL, 1978. Endocrine regulation of fat body development and function. *Annu. Rev. Entomol.*, 23: 329－352.

Keeley LL, 1985. Physiology and biochemistry of the fat body. In: Kerkut GA, Gilbert LI eds. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. Pergamon Press, New York. 211－248.

Li WD, Shi M, Chen XX, 2007. Effects of parasitism by *Diadromus collaris* (Hymenoptera: Ichneumonidae) on morphology and ultrastructure of fat body and adipocytes of host *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) pupae. *Acta Entomologica Sinica*, 50(7): 662－666.［郦卫弟，时敏，陈学新，2007. 颈双缘姬蜂寄生引起小菜蛾蛹脂肪体形态和超微结构的变化. 昆虫学报，50(7): 662－666］

Liu YB, Zhong XC, 1991. Ultrastructure of the adipocytes of pupal perivisceral fat-body in *Philosamia cynthia*. *Acta Zoologica Sinica*, 37(4): 352－358.［刘玉斌，钟香臣，1991. 蓖麻蚕蛹脏器脂肪体的细胞超微构造. 动物学报，37(4): 352－358］

Müller F, Ádori C, Sass M, 2004. Autophagic and apoptotic features during programmed cell death in the fat body of the tobacco hornworm (*Manduca sexta*). *Eur. J. Cell Biol.*, 83: 67－78.

Roma GC, Bueno OC, Camargo-Mathias MI, 2008. Chemical detection of the proteins and lipids in the fat body cells from workers of Attini ants (Hymenoptera: Formicidae). *Cell Biol. Int.*, 32: 406－416.

Rusten TE, Lindmo K, Juhász G, Sass M, Seglen PO, Brech A, Stenmark H, 2004. Programmed autophagy in the *Drosophila* fat body is induced by ecdysone through regulation of the PI3K pathway. *Dev. Cell*, 7: 179－192.

Schwartz LM, Smith SW, Jones ME, Osborne BA, 1993. Do all programmed cell deaths occur via apoptosis? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 980－984.

Scott RC, Schuldiner O, Neufeld TP, 2004. Role and regulation of starvation-induced autophagy in the *Drosophila* fat body. *Developmental Cell*, 7: 167－178.

Shi YX, Li QR, Huang ZJ, Zeng WN, Hu ZY, Lei SY, Deng XJ, Yang WY, Cao Y, Feng QL, 2009. Autophagy and apoptosis in insect cells during metamorphosis. *Acta Entomologica Sinica*, 52(1): 84－94.［史艳霞，李庆荣，黄志君，曾文年，胡占英，雷淑英，邓小娟，杨婉莹，曹阳，冯启理，2009. 昆虫变态发育过程中的细胞自噬和凋亡. 昆虫学报，52(1): 84－94］

Walker PA, 1966. An electron microscope study of the fat body of the moth *Philosamia* during growth and metamorphosis. *J. Insect Physiol.*, 12: 1009－1012.

（责任编辑：赵利辉）